Aus dem Institut für Hygiene und Mikrobiologie der
Universität Würzburg

Vorstand: Professor Dr. C. S o n n e n s c h e i n

Untersuchungen über die Wirksamkeit des T y r o s o l v i n s

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

verfaßt und der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Julius - Maximilians - Universität Würzburg

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Karl Kirchner

aus Essen

Würzburg 1955

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543521_0152

Aus dem Institut für Hygiene und Mikrobiologie der
Universität Würzburg

Vorstand: Professor Dr. C. S o n n e n s c h e i n

Untersuchungen über die Wirksamkeit des T y r o s o l v i n s

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

verfaßt und der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Julius - Maximilians - Universität Würzburg

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Karl Kirchner

aus Essen

Würzburg 1955

Tag der mündl. Prüfung:
16. Dez. 1955

Referent: Prof. Dr. med. C. S o n n e n s c h e i n

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Würzburg

Schon im Jahre 1920 machte P r i n g s h e i m darauf aufmerksam, daß Kulturen von Bacterium brevis bakterizide Stoffwechselprodukte enthielten. Die Darstellung dieser Substanz in relativ reiner Form gelang D u b o s und H o t c h k i s s . Das neuentdeckte Antibiotikum wurde wegen der morphologischen Ähnlichkeit des Wachstums von Bacterium brevis und Tyrothrix-Bazillen "T y r o t h r i c i n" genannt. Es ist keine einheitlich reine Substanz, sondern enthält die beiden Komponenten T y r o c i d i n und G r a m i c i d i n im Prozentsatz von 70 - 80 % und 20 - 30 %. Beide Substanzen sind beständig und scheiden sich in Kristall- und Pulverform ab.

Die chemische Analyse ergab nach H o t c h k i s s bei:

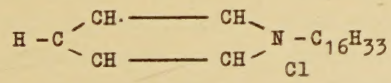
T y r o c i d i n : Summenformel $C_{126}H_{166}N_{26}O_{26} \cdot 2\,HCL$ (als Chloralhydrat gewonnen), Molekulargewicht 2 534.

G r a m i c i d i n: Summenformel $C_{74}H_{105}N_{15}O_{13}$, Molekulargewicht 1 413, bestehend aus 24 Bausteinen: 6 x Leucin; 6 x l-Tryptophan; 5 x dl-Valin; 3 x l-Alanin; 2 x Glycin; 2 x andere Oxyaminosäuren.

Beide Substanzen sind in Alkohol löslich, unlöslich dagegen in Äther, Benzol, Chloroform, Toluol und Wasser.

Zur Lösungsvermittlung dient heute Cetylpyridiniumchlorid, eine quaternäre Ammoniumbase. Schon D u b o s und H o t c h k i s s setzen sie zur Haltbarkeitssteigerung Gramicindinlösungen zu.

Strukturformel des Cetylpyridiniumchlorids:



Die farb- und geschmacklose wässrige Lösung gehört zur Gruppe der kationenaktiven Reinigungsmittel. In den angelsächsichen Ländern benutzt man sie als Desinfektionsmittel, selbst zur Operationsvorbereitung in der Gebrauchsverdünnung 1:100.

Bei Tyrosolvin handelt es sich um ein Präparat der Fa. Byk-Gulden, Lomberg, Chemische Fabrik G.m.b.H., Konstanz und Weilheim, das in flüssiger Form in den Handel kommt. Es ist eine wasserklare Flüssigkeit, geruchfrei, leicht süßlich schmeckend. $P_H = 7{,}2$.

In 100 ccm sind laut Firmenangabe enthalten:

Antibioticum Tyrothricin	0,025
Cetylpyridiniumchlorid	0,025
Glukose	5,5
Aqua dest.	ad 100,0

In ähnlicher Zusammensetzung wird eine Pastille auf den Markt gebracht.

Wir haben also die Kombination eines Antibioticums und eines Desinfektionsmittels vor uns. S k a d h a u g e berichtet bei vergleichenden Untersuchungen über die antibakterielle Wirkung von Cetylpyridiniumchlorid (C), Tyrothricin (T) und Tyrosolvin (TS), daß z. B. von 10 Enterokokkenstämmen bei einer Konzentration von 1:320 000 in Bouillon ohne Serumzusatz in C drei, in T zwei und in TS fünf Stämme völlig gehemmt waren. Bei einer Verdünnung von 1:160 000 waren von 7 Staphylococcus pyogenes aureus-Stämmen in C drei, in T zwei und in TS fünf Stämme, von 12 Staphylococcus pyogenes albus-Stämmen in C neun, in T null und in TS zehn Stämme abgetötet.

Das Mittel selbst ist nur zur lokalen Behandlung geeignet. Parenteral gegeben verursacht es Hämolyse; im Magen-Darmkanal wird es inaktiviert. Sein hohes Molekulargewicht verhindert das Eindringen in tiefere Gewebsschichten. Dieses mangelhafte Diffussionsvermögen erklärt, daß bis zum heutigen Tage nach Tyrothricinverabreichung keine allergischen Reaktionen beschrieben wurden.

M a c h e b o e u f fand an Kulturen von C h l o s t r i d i u m s p o r o g e n e s bei Untersuchungen über die Wirkungsweise des Tyrothricins eine Zerstörung des Bakterienzytoplasmas. Es greift in die Phosphorrylierungsvorgänge des Stoffwechsels ein und aktiviert den Abbau der Mononukleotide. D u b o s , H o t c h k i s s und C o b u r n stellten eine vollkommene Inaktivierung des Redox-Systems der empfindlichen Bakterien fest. Nach ihnen besitzt Tyrocidin eine sowohl gegen grampositive als auch gegen gramnegative Bakterien gerichtete Toxizität, während Gramicidin nur gegen grampositive Erreger wirksam ist. Diese Ergebnisse gegen grampositive Erreger werden von P e t e r s e n, F a r g e l, G u l i c h, D o w n s , R o b i n s o n , G r ä s s l e , B r o c h und J a c o b und anderen bestätigt. G u l i c h hat die geringste hemmende Dosis auf gramnegative Schleimhautkokken mit einer Tyrosolvinverdünnung von 1:256 angegeben. R e i n h a r d t bewies den hohen Synergismus von Tyrothricin zu Penicillin und Streptomycin in seinen Untersuchungen. Er verzeichnet ein Vielfaches der Wirkung gegen grampositive wie gegen gramnegative Keime (Bacterium coli, Pseudomonas pyocyanea) bei gleichzeitiger örtlicher Tyrothricin- und

allgemeiner Penicillin- und Streptomycintherapie. Nach einer Arbeit von L a m m e r s und S a c h s bleibt in der Mundhöhle unter der Tyrosolvinbehandlung ein Teil der saprophytären Flora (gramnegative Mikrokokken und anhaemolytische Staphylokokken) bestehen. Die Autoren sehen in ihnen das antagonistische Prinzip, das stark genug ist, eine elektive Vermehrung coliformer Bakterien zu verhindern.

R a m m e l k a m p gelang es bei Staphylokokken durch wiederholte, mengenmäßig gesteigerte Zugaben des Antibioticums eine Resistenzerhöhung zu erzielen. Jedoch wurden in dieser Beziehung im Verhalten der einzelnen Stämme untereinander deutliche Unterschiede festgestellt.

Das Wirkungsspektrum:

Eigene Untersuchungen: Eine Übersicht über die Ansprechbarkeit des Tyrosolvins auf die verschiedensten Erregerarten mit dem Sprayverfahren:

Methode:

1. Ein Handsprayer aus Metall, wie er zum Besprayen von Stoffen bei Handarbeiten oder bei Friseuren benutzt wird,
2. Reagenzglas zum Einfüllen des Tyrosolvins.

Ausführung: Die zu testenden Stämme wurden auf einer Nähragarplatte mit 5 % defibriniertem Hammelblut in parallelen Impfstrichen aufgebracht. Bei einem Plattenabstand (zur Spraydüse) von etwa 30 cm wurde das Gummigebläse des Sprayers 3 x betätigt. Eine Plattenhälfte wurde durch eine senkrecht zu den Impfstrichen aufgelegte Glasplatte abgedeckt und damit der Einwirkung des Spraynebels entzogen. Die Ablesung erfolgte nach 20-stündiger Bebrütung bei 37° C.

Wertung:

Wachstum in der besprayten Hälfte = keine Empfindlichkeit der Keime
Kein Wachstum in der besprayten Hälfte = Empfindlichkeit der Keime.

Zur quantitativen Bestimmung ist die beschriebene Methode nicht geeignet, da nur ungenau dosiert werden kann.

Alle untersuchten Stämme wurden aus menschlichem Untersuchungsmaterial der bakteriologisch-serologischen Abteilung des Instituts für Hygiene und Mikrobiologie der Universität Würzburg frisch isoliert.

Ergebnisse: T a b e l l e I

Keine Empfindlichkeit zeigten:

Art der Stämme	Anzahl d.untersuchten Stämme
Chromobacterium prodigiosum	8
Pseudomonas pyocyaneum	13
Bacterium proteus vulgaris	17

Bacterium proteus OX 19	2
Bacterium coli	26
Bacterium typhi	3
Salmonella paratyphi	1
Salmonella Schottmülleri	4
Salmonella Hirschfeldii	1
Bacterium enteritis Gärtner	1
Bacterium enteritis Breslau	4
Shigella dysenteriae	1
Shigella ambigua	1
Shigella paradysenteriae	1
Shigella Sonnei	1
Bacterium coli mucosum	6
Brucella melitensis	1
Brucella abortus (USA, X, Eggers)	3
Monilia	38

Bei den Bakterien handelt es sich im wesentlichen um die gramnegative Stäbchenflora. Auch H. S p i e l m a n n stellte in seinen Untersuchungen fest, daß nur in konzentrierter Anwendung (200 γ/ml) ein Effekt nachweisbar ist. Er beobachtete ein Zusammenfallen von bakteriostatischer und bakterizider Konzentration.

Darauf wurde bei den empfindlichen Stämmen die Konzentration bestimmt, in der die Bakterien abgetötet bzw. in welchem Maße sie in ihnen gehemmt wurden.

Technische Durchführung im Röhrchenverdünnungstest:
Nährboden: 1 % Traubenzuckerbouillon mit 10 % Rinderserumzusatz. Ausgehend von der 1:5 verdünnten Lösung Tyrosolvin wurden sieben Konzentrationsstufen gewählt, wobei die nächstfolgende Konzentrationsstufe jeweils die Hälfte des Tyrosolvins der vorherigen Stufe enthielt. Die Verdünnung des Tyrothricins und Cetylpyridiniumchlorids stieg damit von 1:20 000 auf 1:1 280 000. Das entspricht Werten von 50γ Tyrothricin/ml bis 0,78 γ/ml.
Herstellung der Verdünnungen: Für je 80 Untersuchungen wurden folgende Konzentrationsstufen angesetzt (Inhalt des einzelnen Röhrchens der Testreihe 2,0 ml der jeweiligen Konzentrationsstufe):

T a b e l l e II

		Tyrosolvin %	Verd.v.Tyrothric. u. Cetylpyr.chl.	Benennung
Bouillon Serum Tyrosolvin	115,2 ml 12,8 ml 32,0 ml	20	1:20 000	I

Bouillon Serum Tyrosolvin	129,6 ml 14,4 ml 16,0 ml	10	1:40 000	II
Bouillon Serum Tyrosolvin	136,8 ml 15,2 ml 8,0 ml	5	1:80 000	III
Bouillon Serum Tyrosolvin	140,4 ml 17,6 ml 4,0 ml	2,5	1:160 000	IV
Bei den folgenden Konzentrationen wurde 1 ml Tyrosolvin mit 7 ml physiologischer Kochsalzlösung verdünnt.				
Bouillon Serum v.Tyrosolvin	129,6 ml 14,4 ml 16,0 ml	1,25	1:320 000	V
Bouillon Serum v.Tyrosolvin	136,8 ml 15,2 ml 8,0 ml	0,625	1:640 000	VI
Bouillon Serum v.Tyrosolvin	140,4 ml 15,6 ml 4,0 ml	0,3125	1:1 280 000	VII
Kontrolle:				
Bouillon Serum	144,0 ml 16,0 ml			VIII

Grundsätzlich wurde der Bouillon zunächst das Tyrosolvin zugesetzt, anschließend das Gemisch 30 Minuten im Dampftopf gehalten. Nach Abkühlung setzte ich die entsprechenden keimfrei filtrierten Serummengen zu und pipettierte je 2,0 ml in sterile Reagenzgläser. Die Stämme wurden in Traubenzucker-Bouillon 20 Stunden bei 37° C bebrütet, daraufhin jedes Röhrchen der Verdünnungsreihe mit je 0,05 ml Bouillonkultur beschickt. Von der tyrosolvinfreien Kontrolle wurde sofort eine Subkultur auf Blutagarplatte angelegt.

Die Verdünnungsröhrchen einschließlich der Kontrolle wurden 20 Stunden im Brutschrank bei 37° C gehalten. Anschließend kontrollierte ich die Trübung der einzelnen Röhrchen und legte erneut Subkulturen auf Blutagarplatten an.

Die Ablesung der Subkulturen auf Blutagarplatte erfolgte nach 24-stündiger Bebrütung bei 37° C.

Wertung:

War die Keimzahl der Subkultur eines Röhrchens nach 20-stündiger Bebrütung der flüssigen Konzentrationsreihe gleich der Keimzahl der Subkultur des Kontrollröhrchens ohne vorherige Bebrütung oder lag sie darüber, so wurde sie mit

++++ bewertet.

Bei Herabsetzung auf ca. 75 % d. Kontr.	+++
Bei Herabsetzung auf ca. 50 % d. Kontr.	++
Bei Herabsetzung auf ca. 25 % d. Kontr.	+
Wuchs keine Kolonie mehr	-

Bei der Ablesung wurden äußerst strenge Maßstäbe angelegt: war z. B. eine Kolonie gewachsen, so wurde das Ergebnis + gewertet.

Im Folgenden wurde untersucht, ob eine beim Anlegen einer Subkultur auf Blutagarplatte mitübertragene Menge Tyrosolvin zu einer bakteriostatischen bzw. bakteriziden Wirkung führt.

Eine mit unverdünntem Tyrosolvin besprayte und daraufhin getrocknete Blutagarplatte zeigte nach Ausspatelung von 0,05 ml einer Kultur von Staphylococcus pyogenes aureus keinerlei Wachstum. Die aufgebrachte Konzentration muß also so stark sein, daß Keimwachstum unterbleibt. Da keine Haemolyse eintritt, kann von einer Diffusion in den Nährboden keine Rede sein.

Bringt man dagegen auf einer Blutagarplatte nebeneinander je zwei Ösen der einzelnen Konzentrationen der Testreihe auf und wartet das Eintrocknen ab, so zeigen über die Konzentrationsbereiche gelegte Impfstriche mit Staph. pyogenes aureus (Bouillonkultur) keinerlei Wachstumshemmung. Daraus kann geschlossen werden, daß der mit der Subkultur übertragene Lösungsvermittler und das mitübertragene Antibioticum keine faßbare Wirkung auf das Bakterienwachstum ausüben.

Die Wirkung gegenüber Monilia:

Insgesamt wurden 65 Stämme untersucht. Bei der Besprayung sprachen 38 Stämme nicht an. Mit den restlichen 27 Stämmen wurde der Röhrchenverdünnungstest durchgeführt: 22 Stämme blieben selbst in der stärksten Konzentration (I) unbeeinflußt, während hier bei 5 Stämmen die Keimzahl auf +++ (= 75 %, s. oben) abfiel.

Das Ergebnis ist nicht verwunderlich, da ja schon G r a y und K a g i n 1947 im Referat "Un proche parent de la Penicilline - la Tyrothricine" darauf hinwiesen, daß bei der häufigen bakteriellen Verunreinigung von Bierhefe durch einen Zusatz von 0,5 mg Tyrothricin pro ml zwar die Begleitkeime gehemmt werden, das Fermentationsvermögen der Hefe aber nicht beeinflußt wird.

Staphylococcus pyogenes aureus haemolyticus:

Bei den 80 untersuchten Stämmen sprachen in der Tyrothricin- und Cetylpyridiniumchloridverdünnung 1:20 000 (I) 2 Stämme = 2,5 % nicht an. Es handelt sich bei dem einen um ein Abszesspunktat (Test[x]): Penicillin +, Streptomycin ++, Supronal ++, Gantrisin -); der andere entstammt Wundsekret nach Hirntumoroperation (Test: Aureomycin: ±, Chloromycetin ++, Streptomycin +, Penicillin -). Alle übrigen Stämme waren in VII (1:1 280 000) und VI (1:640 000) = ++++. Ein Stamm fiel in V (1:320 000) auf ++, blieb jedoch in IV (1:160 000) und III (1:80 000) bei gleichem

Wachstum und wuchs in II (1:40 000) und I (1:20 000) überhaupt nicht mehr. Der Keim wurde aus Urin eines 64-jährigen Patienten nach Prostatektomie gezüchtet.

Eine Übersicht über das Wachstum in den einzelnen Konzentrationen gibt Tabelle III.

In I waren 42 Stämme überhaupt nicht mehr gewachsen, in II waren es 14 Stämme (= 17,5 %), in III und IV ein Stamm. Bei 30 Stämmen (= 37,5 %) ergab die Ablesung in der stärksten Konzentration (I) +. Aus dem Gesagten ergibt sich, daß die Keimzahl auf der Blutplatte nach Ausstrich der 1:5 verdünnten Lösung Tyrosolvin (= I) (oder Verdünnung von Tyrothricin und Cetylpyridiniumchlorid auf je 1:20 000) unter sonst optimalen Bedingungen in 90 % eine Minderung um mindestens 75 % der Ausgangskeimzahl erfuhr

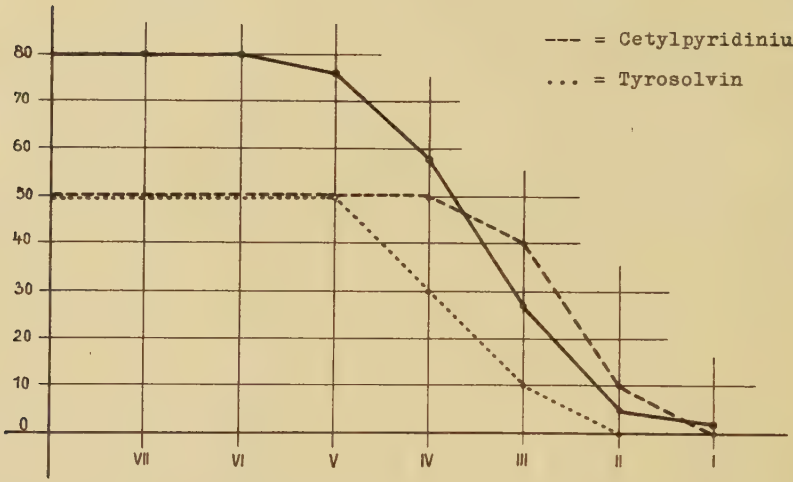
T a b e l l e III

Konz.-Stufe	Wertung ++++	+++	++	+	-
I	2 = 2,5 %	0 = 0	6 = 7,5 %	30 = 37,5 %	42 = 52,5 %
II	5 = 6,25%	17 = 21,25%	21 = 26,25%	23 = 28,75%	14 = 17,5 %
III	27 = 33,75%	17 = 21,25%	23 = 28,75%	12 = 15 %	1 = 1,25%
IV	58 = 72,5 %	11 = 13,75%	6 = 7,5 %	4 = 5 %	1 = 1,25%
V	76 = 95 %	3 = 3,75%	0 = 0 %	1 = 1,25%	0 = 0 %
VI	80 = 100 %				
VII	80 = 100 %				

Eine Kurve soll das Ganze noch besser veranschaulichen. Auf der Abszisse sind die entsprechenden Verdünnungen eingezeichnet, die Ordinate verkörpert die Stammzahl. (s. Seite 8)

Unter den getesteten Stämmen befanden sich 26 penicillinresistente (x)=Sämtliche gegebenen Testwerte wurden mit dem Blättchenverfahren (Diffusionsmethode) gewonnen), die in Tabelle IV angeführt werden.

Staphylococcus pyogenes aureus haemolyticus



Bakterizider Effekt des Tyrosolvin untersucht in verschiedenen Konzentrationen.

T a b e l l e IV

Konz.-Stufe	Wertung ++++	+++	++	+	-
I	1 = 3,84 %	0 = 0 %	2 = 7,68%	5 = 19,2 %	18 = 69,2%
II	3 = 11,52 %	4 = 15,36 %	4 = 15,36%	8 = 30,77%	7 = 26,9%
III	9 = 34,6 %	5 = 19,2 %	10 = 38,4 %	2 = 7,68%	0 = 0 %
IV	18 = 69,2 %	4 = 15,36 %	4 = 15,36%	0 = 0 %	0 = 0 %
V	25 = 96,2 %	1 = 3,84 %	0 = 0 %	0 = 0 %	0 = 0 %
VI	26 = 100 %				
VII	26 = 100 %				

Rechnet man mit dem Faktor 2,08 auf den Stand von 54 Stämmen um, die gegenüber Penicillin normalempfindlich waren, so erhält man folgende Vergleichszahlen:

Tabelle V

	Penicillin -	Penicillin +
I	2,08	1
II	6,24	2
III	18,72	18
IV	37,44	40
V	52,0	51
VI	54,0	54
VII	54,0	54

Daraus folgt, daß sich die Daten miteinander decken. Auch erwiesen sich die penicillinresistenten Staphylococcen vom Typ Staph.pyog.aur.haem. als hochempfindlich. Im Zahlenverhältnis gegenüber penicillinempfindlichen Staph. treten keine Unterschiede in der Gesamtwertung auf. Die Differenzen in den zwei stärksten Konzentrationsstufen (I und II) sind durch die Faktorenrechnung bedingt. Bei umfangreicherem Material dürfte man keine wesentlichen Unterschiede feststellen können.

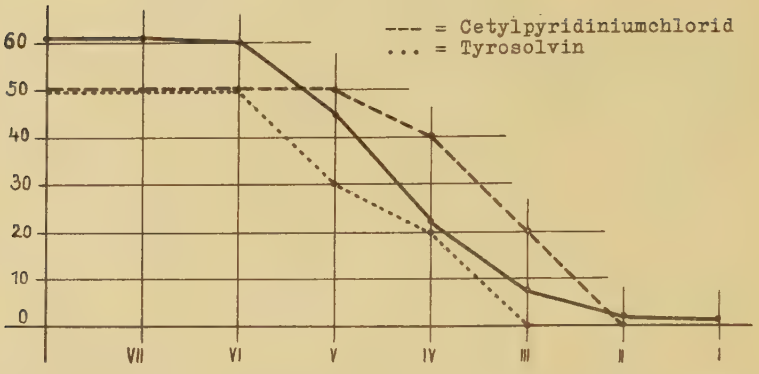
Staphylococcus pyogenes albus:

Bei Staphylococcus pyogenes albus liegen die Verhältnisse ähnlich. Ich testete 61 Stämme. Nur ein Stamm (= 1,64 %) wurde in der stärksten Konzentration (I) noch nicht gehemmt. Bei diesem handelte es sich um einen aus Galle gezüchteten Keim. Bei rund 97 % aller Stämme fielen in der stärksten Konzentration (I) die Keimzahlen auf ca. 25 % der Ausgangskeimzahl und darunter; bei 73,7 % dieser Stämme unterblieb jegliches Keimwachstum. Im einzelnen gibt Tabelle VI eine bessere Übersicht:

Tabelle VI

Konz.-Stufe	Wertung ++++	+++	++	+	-
I	1 = 1,64%	0 = 0 %	1 = 1,64%	14 = 22,9 %	45 = 73,7 %
II	2 = 3,28%	2 = 3,28%	10 = 16,4 %	22 = 36,0 %	25 = 40,9 %
III	7 = 11,4 %	8 = 13,04%	17 = 27,9 %	18 = 29,54%	11 = 18,0 %
IV	22 = 36,0 %	9 = 14,7 %	9 = 14,7 %	14 = 22,9 %	7 = 11,4 %
V	45 = 73,7 %	5 = 8,19%	4 = 6,56%	6 = 9,84%	1 = 1,64%
VI	60 = 98,36%	0 = 0 %	1 = 1,64%	0 = 0 %	0 = 0 %
VII	61 = 100 %				

Staphylococcus pyogenes albus



Bakterizider Effekt des Tyrosolvin untersucht in verschiedenen Konzentrationen.

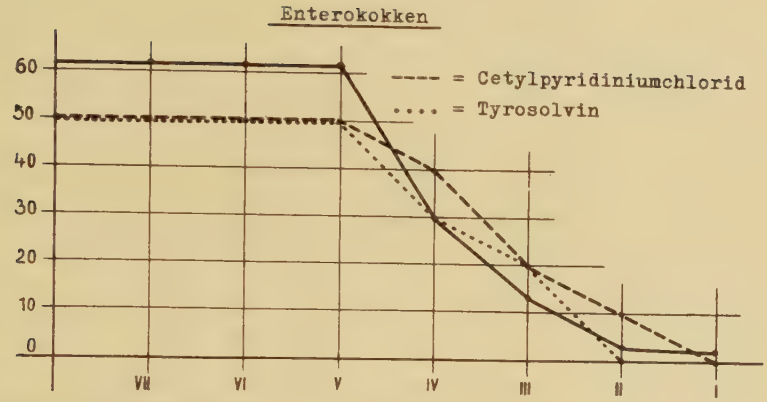
Enterokokken:

T a b e l l e VII

Konz.-Stufe	Wertung ++++	+++	++	+	-
I	2 = 3,23%	0 = 0 %	2 = 3,23%	10 = 16,1 %	48 = 77,4 %
II	3 = 4,64%	4 = 4,64%	10 = 16,5 %	22 = 35,48%	23 = 37,13%
III	13 = 20,9 %	10 =16,5 %	13 = 20,9 %	18 = 29,0 %	8 = 12,9 %
IV	30 = 49,5 %	11 =17,74%	8 = 12,9 %	10 = 16,5 %	3 = 4,64%
V	62 = 100 %				
VI	62 = 100 %				
VII	62 = 100 %				

Im Röhrchenverdünnungstest waren von 62 getesteten Enterokokkenstämmen 2 Stämme resistent. Beide wurden aus Galle gezüchtet (Test: 1. Chloromycetin +++, Penicillin -; 2. Chloromycetin +++, Streptomycin ++, Penicillin -). Im Gegensatz zu den Staphylokokken, bei denen sich schon in VI bzw. V einige Stämme empfindlich zeigten, trat die Wirkung auf Enterokokken erst in IV ein. Hier wurden 11 Stämme mit +++, 8 Stämme mit ++, 10 Stämme mit +, 3 Stämme mit - eingestuft. Vergleicht man die Prozentsätze der abgestorbenen Stämme (1:20 000) von Staphylokokken und Enterokokken, so ergibt sich folgendes:

bei Enterokokken	77,4 %
bei Staph.pyog.aur.haem.	52,5 %
bei Staph.pyog.alb.	73,7 %



Bakterizider Effekt des Tyrosolvin untersucht in verschiedenen Konzentrationen.

Streptokokken:

Bei den Streptokokken war eine serologische Unterteilung aus technischen Gründen nicht möglich. Deshalb wurde Haemolyse bzw. Vergrünung auf Nähragarplatte mit 5 % defibriniertem Hammelblut als Einteilungsprinzip verwendet.

a) Streptococcus viridans.

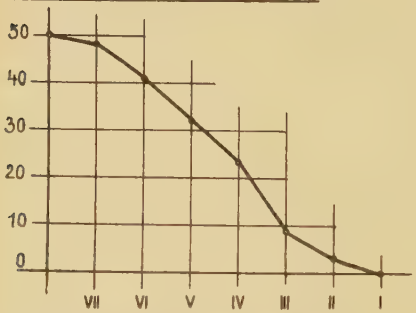
50 Stämme wurden getestet. Sämtliche Stämme zeigten in der stärksten Konzentration (I) starke Wachstumshemmung bzw. Abtötung. Schon bei einer Tyrothricin- und Cetylpyridiniumchloridverdünnung von 1:1 280 000 war ein Stamm auf 50 %, ein anderer auf 25 % seiner Ausgangskeimzahl gefallen. Beide entstammen Sputen (1. Bronchiektasen, Test: Penicillin ++, Streptomycin ++, Supronal ++, Gantrisin -; 2. Streptomycin +, Chloromycetin ++, Aureomycin +, Penicillin +).

Bemerkenswert ist die völlige Wachstumshemmung eines nahezu penicillinresistenten Stammes aus dem Sputum eines Perniciosakranken bei Pneumonieverdacht, die schon bei einer 0,625 %igen Lösung von Tyrosolvin (VI) eintrat (Test: Penicillin ±, Streptomycin +++, Supronal ++, Gantrisin -, Aureomycin ++).

Tabelle VIII

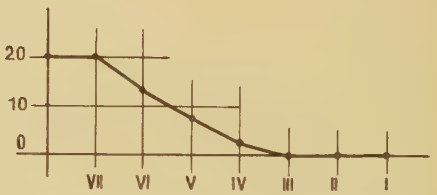
Konz.-Stufe	Wertung ++++	+++	++	+	-
I	0 = 0 %	0 = 0 %	2 = 4 %	3 = 6 %	45 = 90 %
II	3 = 6 %	2 = 4 %	3 = 6 %	3 = 6 %	39 = 78 %
III	9 = 18 %	7 = 14 %	3 = 6 %	4 = 8 %	26 = 72 %
IV	23 = 46 %	7 = 14 %	4 = 8 %	3 = 6 %	16 = 32 %
V	32 = 64 %	0 = 0 %	6 = 12 %	2 = 4 %	7 = 14 %
VI	41 = 82 %	4 = 8 %	1 = 2 %	2 = 4 %	4 = 8 %
VII	48 = 96 %	0 = 0 %	1 = 2 %	1 = 2 %	0 = 0 %

Vergrünende Streptokokken



Bakterizider Effekt des Tyrosolvin untersucht in verschiedenen Konzentrationen.

Haemolysierende Streptokokken



Bakterizider Effekt des Tyrosolvin untersucht in verschiedenen Konzentrationen.

b) Streptococcus haemolyticus:

Sämtliche untersuchten 21 haemolysierenden Streptokokkenstämme waren in I (1:20 000) abgestorben. Zwei aus dem Nasen-Rachenraum bei Angina und aus einem Sputum bei Lungentuberkulose gezüchtete Keime wuchsen in VI (1:640 000) nicht mehr. In V (1:320 000) waren 33,3 % völlig gehemmt, 33,3 % wuchsen ungehemmt und 33,3 % zeigten eine Herabsetzung der Keimzahl auf +++ in 9,52 % und auf ++ in 23,8 % der Fälle. Testungen mit anderen Pharmaka wurden bei diesen empfindlichen Keimen nur in einem Falle vorgenommen. Es handelt sich um Eiter nach Schußverletzung. (Test: Penicillin +++, Streptomycin ++, Supronal +++, Gantrisin -). Tyrosolvintest: VII ++++, VI +++, V ++, IV - .

T a b e l l e IX

Konz.-Stufe	Wertung ++++	+++	++	+	-
I	0 = 0 %	0 = 0 %	0 = 0 %	0 = 0 %	21 = 100%
II	0 = 0 %	0 = 0 %	1 = 4,76%	1 = 4,76 %	19 = 90,48%
III	0 = 0 %	2 = 9,52%	2 = 9,52%	0 = 0 %	17 = 80,95%
IV	2 = 9,52%	5 = 23,8 %	1 = 4,76%	0 = 0 %	13 = 61,9 %
V	7 = 33,3 %	2 = 9,52%	5 = 23,8 %	0 = 0 %	7 = 33,3 %
VI	13 = 61,9 %	2 = 9,52%	2 = 9,52%	2 = 9,52 %	2 = 9,52%
VII	20 = 95,24%	1 = 4,76%	0 = 0 %	0 = 0 %	0 = 0 %

Tyrosolvin bei Diphtherie.

In der neuzeitlichen Therapie der Diphtherie spielen tyrothricinhaltige Präparate eine große Rolle. In der italienischen Literatur sind umfangreichere Arbeiten erschienen. Sie berichten von klinischen Erfahrungen, die hier im Vordergrund stehen, da gerade das Wachstum von Corynebacterium diphtheriae durch eine Vielzahl von Substanzen in vitro gehemmt wird; am lebenden Organismus erwiesen sie sich jedoch als unwirksam. In "La Tyrothricina nella sterilizziazione dei portatori difterici" (Minerva med. 41 (1950)) wird berichtet: Bei Verwendung einer 1:2 000 verdünnten wässrigen Lösung von Tyrothricin in Dosen von 3,0 ml 2 x täglich als Aerosol mit feinem Filtrationsgrad wurden von 100 Patienten 98 geheilt: 54 Pat. innerhalb von 4 Tagen, 12 Pat. innerhalb von 7 Tagen, bei den restlichen 32 Pat. wurde ein längerer Zeitraum benötigt. Nur in 2 Fällen (= 2 %) war noch die Tonsillektomie nötig. Frühere Ergebnisse (andere Therapie) wurden mit 6,8 % angegeben. Bei gleichzeitiger experimenteller Testung der Keime machte der Autor die Erfahrung, daß die in vitro Hemmung der Keime von Neuerkrankten höhere Tyrothricinkonzentrationen erfordert als die Hemmung der Keime von sogenannten Dauerausscheidern.

K. F. P e t e r s e n spricht von einer Hemmung im Bereich von 0,5-6,0 γ Tyrothricin/ml. Abtötung in Bouillon eingesäter Keime erzielte er im Bereich von 1,5-12,0 γ Tyrothricin/ml.

Bei G u l i c h betrug die geringste hemmende Tyrosolvindosis gegenüber Diphtheroiden 1:16. L a m m e r s und D o r n e r testeten in eiweißfreien Nährböden zwischen 0,5 - 2,5 γ Tyrothricin/ml.

Eine von mir bei akuter Diphtherie (2. Tag) isolierter Stamm von Corynebacterium diphtheriae wuchs in der Verdünung

1:160 000 (IV = 6,25 γ Tyrothricin/ml) ++++; in der Verdünnung
1: 80 000 (III =12,6 γ Tyrothricin/ml) +; in der Verdünnung
1: 40 000 (II = 25,0 γ Tyrothricin/ml) -.

Andere Corynebakterien:

Alle getesteten 5 Pseudodiphtheriebakterienstämme waren in der Verdünnung 1:20 000 (I) abgestorben. Ein penicillinresistenter Stamm (Strahlurin bei Thrombophlebitis) zeigte folgende Testungen: Penicillin -, Streptomycin -, Supronal -, Gantrisin ++; Tyrosolvintest: IV ++++, III +++, II ++, I -. Die größte Empfindlichkeit zeigte schon in V (1:320 000) ein aus Katheterurin bei Verdacht auf Nierenstein gezogener Keim. Einzelheiten siehe Tabelle X.

T a b e l l e X

Konz.-Stufe	Wertung				
	++++	+++	++	+	-
I	0	0	0	0	5
II	1	0	2	1	1
III	2	1	1	0	1
IV	4	0	0	0	1
V	4	0	0	1	0
VI	5				
VII	5				

Pneumokokken.

Zwei aus Sputen gezüchtete Keime von Pneumococcus mucosus verhielten sich in der stärksten Konzentration (I) resistent. Die Ergebnisse der restlichen fünf Pneumokokkenstämme vermittelt Tabelle XI.

T a b e l l e XI

Konz.-Stufe	Wertung				
	++++	+++	++	+	-
I	0	0	0	0	5
II	1	0	0	1	3
III	1	0	1	2	1
IV	1	1	1	2	0
V	5				
VI	5				
VII	5				

Wie die Enterokokken zeigen sie erst ab III eine bakterizide Wirkung. Nach Ausstrich aus dem bebrüteten Röhrchen I auf die Blutagarplatte war in keinem Falle ein Wachstum nachweisbar.

Ein Vergleich: Tyrosolvin/Cetylpyridiniumchlorid.

Um die Tyrosolvin- mit der Cetylpyridiniumchloridwirkung vergleichen zu können, wurden Nährböden der gleichen Herstellungsserie verwendet. Die Ergebnisse wurden in die Kurven eingetragen. Die Hemmwirkung des Cetylpyridiniumchlorids ist geringer als die des Tyrosolvins.

Zusammenfassung

An insgesamt 447 Bakterien- und Moniliastämmen wurde die Wirksamkeit des "Tyrosolvin" (Fa. Byk-Gulden, Lomberg, Chemische Fabrik G.m.b. H. Konstanz und Weilheim. Zusammensetzung laut Firmenangabe: Antibiotikum Tyrothricin 0,025, Cetylpyridiniumchlorid 0,025, Glukose 5,5, Aqua dest. ad 100,0) erprobt. Es handelt sich um die Kombination des Antibiotikums Tyrothricin und einer quaternären Ammoniumbase.

Alle Stämme wurden aus menschlichem Untersuchungsmaterial der bakteriologisch-serologischen Abteilung des Institutes für Hygiene und Mikrobiologie der Universität Würzburg frisch isoliert.

1. Die Ergebnisse wurden
   a) im Sprayverfahren und
   b) mit einem Röhrchenverdünnungstest gewonnen.

Zu a) Auftragen der Teststämme auf eine Nähragarplatte mit 5 % defibriniertem Hammelblut. Eine Plattenhälfte wird durch eine Glasplatte abgeschirmt und die andere Hälfte durch einen Handsprayer mit Tyrosolvin besprengt. Düsenabstand 30 cm. Anschliessend 20-stündige Bebrütung des so vorbehandelten Nährbodens.
Wertung: Bakterienwachstum in der besprayten Hälfte = keine Empfindlichkeit und umgekehrt.

Zu b) Material: 1 % Traubenzuckerbouillon mit 10 % Rinderserumzusatz. Herstellung von 7 Konzentrationsstufen bei denen die Lösungen einen in gerader geometrischer Reihe von 20 % auf 0,3125 % fallenden Tyrosolvingehalt aufweisen. Kontrolle ohne Tyrosolvinzusatz.
Technik: Jedes Röhrchen der Verdünnungsreihe wird mit 0,05 ml Bouillonkultur beschickt. Sofort Anlegen einer Subkultur der tyrosolvinfreien Kontrolle auf Blutagar. Nach 20-stündiger Bebrütung werden Subkulturen aus jedem Röhrchen der Verdünnungsreihe angelegt und nach erneuter Bebrütung das Bakterienwachstum verglichen.

2. Die gramnegativen Stäbchenbakterien wurden durch Tyrosolvin in ihrem Wachstum nicht gehemmt.
3. Bei 65 Stämmen von Monilia (Hefen, Soor) erwieß sich Tyrosolvin im wesentlichen als wirkungslos.
4. Bei 80 Stämmen von Staphylococcus pyogenes aureus haemolyticus verhielten sich 2 Stämme in der Konzentrationsstufe mit einem Gehalt von 20 % Tyrosolvin resistent. An 42 Stämmen konnte dagegen ein bakterizieder und bei 36 Stämmen ein deutlicher bakteriostatischer Effekt nachgewiesen werden.
5. Auch unter 61 Stämmen von Staphylococcus pyogenes albus war ein Stamm gegenüber Tyrosolvin in der 20 %igen Lösung resistent, während alle übrigen Bakterienstämme in den verschiedenen Konzentrationsstufen abgetötet wurden oder das Wachstum zumindest als stark gehemmt erschien.
6. Insgesamt 77,4 % von 62 Enterokokkenstämmen wurden in der Konzentrationsstufe mit einem Gehalt an 20 % Tyrosolvin abgetötet, 19,3 % zeigten ein deutlich vermindertes Bakterienwachstum, nur 2 Stämme verhielten sich resistent.
7. Unter 50 getesteten Stämmen von Streptococcus viridans (Vergrünung der Nähragarplatte mit 5 % defibriniertem Hammelblut) wurde schon in der Konzentrationsstufe mit 0,625 %igem Tyrosolvingehalt bei 4 Stämmen Bakterizidie beobachtet. Resistenzen traten in der Bouillonkultur mit 20 % Tyrosolvinzusatz nicht auf.
8. Als sehr empfindlich gegenüber Tyrosolvin erwiesen sich 21 Stämme von Streptococcus haemolyticus (Haemolyse der Nähragarplatte mit 5 % defibriniertem Hammelblut). In der Bouillonkultur mit einem Gehalt von 10 % Tyrosolvin zeigte sich bei 19 Stämmen Bakterizidie; an 2 Stämmen ließen sich eindeutige bakteriostatische Effekte nachweisen.
9. Das Wachstum von Corynebacterium diphtheriae und pseudodiphtheriae wurde durch Tyrosolvin in vitro stark gehemmt.
10. 2 Stämme von Pneumococcus mucosus verhielten sich in der Bouillonkultur mit einem Zusatz von 20 % Tyrosolvin resistent.
11. Bei 5 Stämmen von Streptococcus lanceolatus (Pneumokokken) traten keine Resistenzen gegenüber Tyrosolvin auf.

Mein aufrichtiger Dank gilt Herrn Professor Dr. S o n n e n s c h e i n für die Überlassung des Themas und seine Ratschläge hinsichtlich Aufbau und Gliederung der Arbeit.

Herrn Privatdozenten Dr. D i m m l i n g sei für die Hinweise bei Durchführung der Arbeit ergebenst gedankt.

Literaturangaben

Broch, P. und F. Jacob	Vigot, Frères Editeurs, Paris 1947
Dorner, G.	Die Therapiewoche 10/11. April 1952
Downs, C. M.	J.Bacter. Am. 44 (1942), 392
Dubos, R. J.	J.exper.Med.(Am.) 70 (1939), 11-17
Dubos, R. J. u. R. D. Hotchkiss	J.exper.Med.(Am.) 73 (1941),629-640
	Tr.and Stud.Coll.Physicians, Philadelphia 10 (1942), 11-19
Dubos, R. J., Hotchkiss, R. D. und A. F. Coburn	J.Biol.Chem.(Am.) 146 (1942),421-426
Heilmann, D., Herrell, W. E.	Proc.Soc.exper.Biol.a.Med.(Am.) 46 (1941), 182-184
Helmsworth, J. A. Hoxworth, P. I.	Surg.etc. 80 (1945), 475-478
Hotchkiss, R. D. und R.J.Dubos	J.biol.Chem.(Am.) 132 (1940),791-792
Lammers, Th. und G.Dorner	Ärztl.Wschr.6 (1951),948-950
Lammers, Th. und H. Sachs	Zahnärztl.Welt 6 (1951), 455-456
Mann, F. C., Heilmann, D. H. und W. E. Herrell	Proc.Soc.exper.Biol.a.Med. (Am.) 52 (1943), 31-33
Petersen, K. F.	Klin.Wschr. 29 (1951), 395-396
	Arch.Hyg.u.Bakter.134 (1951), 314-320
Rammelkamp, C. H.	Proc.Soc.exper.Biol.a.Med.(Am.) 49 (1942), 346-358
Robinson, H. J. u. O. E. Graessle	J. Pharmacol. (Am.) 76 (1942), 316-325
Robinson, H. J. u. H. Molitor	J.Pharmacol.(Am.) 74 (1942), 75-82
Skadhauge, K.	Ugeskr.Laeg.(Dän.) (1950),1065-1076, und 1083
Spielmann, H.	Dtsch.med.Wschr. 77(1952),174-176

Lebenslauf

Am 23. 5. 1922 wurde ich als Sohn des Ingenieurs Theodor Kirchner in Essen geboren. Ich bin evangelischer Konfession.

Von Ostern 1928 bis Ostern 1932 besuchte ich die Volksschule, bis zum Herbst 1940 das Helmholtz-Realgymnasium meiner Heimatstadt, welches allerdings mit dem Schuljahr 1937/38 zur Oberschule umgeformt wurde. Dort legte ich auch die Reifeprüfung ab.

Anschließend wurde ich sofort eingezogen und konnte erst nach meiner Entlassung aus der Gefangenschaft 1946 mit dem Medizinstudium beginnen. Ich studierte alle zehn Semester in Würzburg und bestand im Frühjahr 1952 mein Staatsexamen mit "gut".

Zu Beginn meiner ärztlichen Ausbildung arbeitete ich jeweils drei Monate in der bakteriologisch-serologischen Abteilung des Institutes für Hygiene und Mikrobiologie der Universität Würzburg, ab November 1952 als Volontärassistent an der Heilstätte des BRK - Donndorf/Bayreuth. In dieser Zeit wurde in Zusammenarbeit mit Herrn Dr. F.-A. Kretzschmar die Arbeit "Lungendiagnostik in der Praxis durch Röntgen-Hartstrahltechnik", die im Tuberkulosearzt 7/54 erschien, erstellt. Von März bis Oktober 1954 arbeitete ich in der Inneren Abteilung des Krankenhauses Herzoghöhe Bayreuth. Die lungenfachärztliche Ausbildung setzte ich dann im Tuberkulosekrankenhaus Kutzenberg fort und seit März 1955 bin ich als Assistenzarzt an der Heilstätte Luitpoldheim Lohr am Main tätig.

Seit 1948 bin ich verheiratet und habe eine Tochter.

Ich versichere ehrenwörtlich, daß ich die vorliegende Arbeit selbständig verfaßt und außer der angegebenen Literatur keine weiteren Hilfsquellen benutzt habe.

Ich versichere ehrenwörtlich, daß ich bisher von keiner anderen Seite ein Dissertationsthema zur endgültigen Bearbeitung erhalten habe. Ein mir früher zugeteiltes Thema habe ich ordnungsgemäß zurückgegeben.

Karl Kirchner

RUDOLF BAEHR DRUCK- UND WERBETECHNIK
WÜRZBURG KOLOFFSTEINSTR. 3